

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**UTILIZAÇÃO DAS ENZIMAS AMIOLÍTICAS NA PECUÁRIA
LEITEIRA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Isabella Maria Alves Peixoto

Orientador: Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira

JABOTICABAL – SP
2º Semestre/2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS
CÂMPUS DE JABOTICABAL

**UTILIZAÇÃO DAS ENZIMAS AMIOLÍTICAS NA PECUÁRIA
LEITEIRA: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Isabella Maria Alves Peixoto

Orientador: Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
à Faculdade de Ciências Agrárias e
Veterinárias – Unesp, Câmpus de Jaboticabal,
como parte das exigências para graduação em
Zootecnia.

JABOTICABAL – SP
2º Semestre/2022

FICHA CATALOGRÁFICA

P379u Peixoto, Isabella Maria Alves
Utilização das enzimas amilolíticas na pecuária leiteira : revisão bibliográfica / Isabella Maria Alves Peixoto. -- Jaboticabal, 2023
43 p. : il.

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado - Zootecnia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Mauro Dal Secco de Oliveira

1. Produção animal. 2. Gado leiteiro. 3. Nutrição animal. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE JABOTICABAL



DEPARTAMENTO:

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

TÍTULO : Utilização das Enzimas Amilolíticas na Pecuária Leiteira: Revisão Bibliográfica

ACADÊMICO: Isabella Maria Alves Peixoto

CURSO:
Zootecnia

ORIENTADOR (ES): Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira

Aprovado e corrigido de acordo com as sugestões da Banca Examinadora

BANCA EXAMINADORA:

	(Nomes)
Presidente	Prof. Dr. Mauro Dal Secco de Oliveira
Membro	Livia de Oliveira Andrade
Membro	Ana Paula Garcia Gonçalves

(Assinatura)

Jaboticabal 20 / 01 / 2023

Aprovado em reunião do Conselho do Departamento em: / /

Prof. Dr. EDNEY PEREIRA DA SILVA
Chefe do Departamento de Zootecnia
Matrícula Nº 422823-6

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Helena e José, por me apoiarem e acreditarem sempre em mim.

Aos meus irmãos, Eduardo, Danilo e Daniele, por sempre me apoiarem, acreditarem e me motivarem a estudar e a seguir meus sonhos.

Aos meus amigos, os quais sempre me incentivaram, ajudaram e apoiaram.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me dar a sabedoria, coragem, paciência e a oportunidade de realizar meu sonho de formar.

Ao prof. Mauro Dal Secco de Oliveira, por sua orientação, apoio, incentivo e confiança no trabalho realizado, agradeço pela disponibilidade em me atender e esclarecer minhas dúvidas e também por ser um exemplo a seguir nesta profissão maravilhosa.

Agradeço a minha mãe, por sempre oferecer as melhores condições para os meus estudos, por me apoiar e incentivar a ser uma grande mulher e profissional como ela.

Ao meu pai, por sempre me ajudar, guiar e apoiar as minhas ideias.

Aos meus irmãos, que sempre me apoiaram, me ajudaram e incentivaram a seguir meus sonhos.

Agradeço a Carol, por sempre acreditar em mim, me apoiar e incentivar a seguir meus sonhos e sempre me ajudar quando eu mais precisei e aguentar meus surtos.

Agradeço a Mikaella (Pirarukú), uma irmã que sempre me apoiou, incentivou e encorajou a seguir meus planos e me aguentou morando junto comigo nesses anos da faculdade, com ela aprendi muito e agradeço por sempre me ajudar quando precisei e por compartilhar a vida comigo e ser uma pessoa muito companheira. Gratidão pelos 09 anos de amizade (aí tem história!)

À Júlia (Escolta), outra irmã do coração, por sempre me ouvir, me ajudar a levantar na vida e sempre me socorrer quando precisei, por ser muito companheira e compartilhar sua vida comigo em todos os momentos!

Agradeço a Barbara (Barbrinha/Apagão), por sempre me ouvir, aconselhar, me ajudar, me acordar para a vida e ser muito parceira em todos os momentos, uma pessoa que eu não imaginava ser amiga e hoje não vivo sem!

À Ana Bárbara (Timbóra), por sempre me ajudar com o que preciso, pelos puxões de orelhas, por me apoiar, incentivar, aconselhar e motivar a ser ativa na vida e a seguir meus sonhos! Obrigada por ser tão companheira e por me surpreender de uma forma tão linda! Em tão pouco tempo se tornou muito especial e importante para mim, gratidão por tudo!

Agradeço a Livia, Paulinha, Gabrielly (Ximi), Larissa (Mococão), Naiara (Nemo), Ana Victória (Corotin), Larissa (Bahraco), Filipe (Giribola) e ao PET Zootecnia, por sempre

acreditarem em mim, me apoiarem, me ajudarem sempre que precisei e na minha evolução pessoal e profissional.

OBRIGADA!

ÍNDICE

1.INTRODUÇÃO.....	01
2.OBJETIVOS.....	33
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	04
3.1. PROCESSAMENTO DE GRÃOS DE CEREAIS.....	05
3.2. OS ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE BOVINOS.....	08
3.3. DEFINIÇÃO E TIPOS DE ENZIMAS EXÓGENAS.....	10
3.3.1. ALGUMAS PARTICULARIDADES DAS ENZIMAS EXÓGENAS.....	13
3.3.2. IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAS EXÓGENAS.....	21
3.4. AMIDO E AS ENZIMAS AMILASES.....	24
3.4.1. RELAÇÃO DA DEGRADAÇÃO E DIGESTIBILIDADE DO AMIDO COM AS ENZIMAS AMIOLÍTICAS.....	28
3.4.2. MECANISMO DE AÇÃO DAS ENZIMAS AMIOLÍTICAS.....	30
3.5. DESEMPENHO DE VACAS LEITEIRAS ALIMENTADAS COM ENZIMAS AMIOLÍTICAS.....	32
4.CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
5.RESUMO	38
6.SUMMARY	35
7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

LISTA DE FIGURAS**PÁGINA**

Figura 1 – Anatomia do grão de milho e suas partes.....	27
Figura 2 – Tipos de milho e as relativas proporções do endosperma farináceo e vítreo.	28
Figura 3 – Complexo enzima-substrato.....	30

1. INTRODUÇÃO

Ao fornecer alimentos para o crescimento da população mundial é fundamental que a produção de ruminantes encontre maneiras de aumentar a eficiência de utilização dos nutrientes em dietas para assim melhorar e maximizar o uso de terras agricultáveis no mundo (KINGSTON-SMITH et al., 2013). Dessa forma, considerando que a população atual de 7,5 bilhões de pessoas no mundo tende a aumentar até 2050 para 9,6 bilhões (UNITED NATIONS, 2013) é preciso suprir essa demanda. Desde 1960 tem-se estudado o uso de amilase exógena na dieta de bovinos leiteiros e, recentemente, alguns fatores foram responsáveis por aumentar o interesse em maximizar o uso do amido e da energia dos carboidratos nas dietas de gado leiteiro, como o melhor entendimento da digestão dos carboidratos e do amido, a alta variedade de ingredientes e o alto preço do milho. Mesmo o amido apresentando alta digestibilidade, o uso de tecnologias como o processamento e a utilização de enzimas exógenas podem ser aplicadas para alterar o ambiente ruminal e assim melhorar a eficiência produtiva sem causar muitos impactos negativos na saúde do rúmen ou provocar acidose ruminal (Correa et al., 2002). Um aspecto importante no uso da amilase exógena no Brasil é a variedade do milho a ser utilizada. No país, predomina-se o cultivo do milho tipo duro, o qual apresenta baixa degradabilidade ruminal em comparação ao milho farináceo. O uso de enzimas na alimentação animal teve início a partir de 1980, com foco para aves e suínos, mesmo os aditivos apresentando alto custo e eficiência duvidosa (BARLETTA, 2011).

A energia consumida pelos ruminantes provém principalmente de polissacarídeos que se encontram na parede celular dos vegetais ou de polissacarídeos de reserva das plantas, nomeado “carboidratos não estruturais”. Esses carboidratos são formados por frutanas, açúcares e principalmente pelo amido, sendo eles determinados como carboidratos não fibrosos. O amido é um polissacarídeo não estrutural, sintetizado pelas plantas e apresenta função de reserva energética na germinação dos grãos, períodos de dormência, crescimento e rebrota (WANG et al., 1998), além disso é armazenado em caules, raízes, tubérculos e grãos das plantas. De acordo com Beauchemin et al. (2003), as enzimas exógenas são consideradas extratos naturais que apresentam grande potencial

de melhorar o uso de nutrientes na dieta, a fim de melhorar a eficiência produtiva de vacas leiteiras e, concomitantemente, não trazerem efeitos nocivos à saúde humana.

Todos os animais utilizam enzimas para digerir alimentos, sejam elas produzidas pelo próprio animal ou por microrganismos que se encontram no trato digestório. Apesar disso, o processo de digestão dos animais não é 100% eficiente, por isso faz-se a adição de enzimas amilolíticas na dieta dos animais, para aumentar a digestibilidade ruminal de carboidratos e principalmente, do amido (TRICARICO et al., 2008; DILORENZO et al., 2011). As enzimas são proteínas produzidas por um organismo vivo que catalisam reações químicas específicas devido ao alto grau de afinidade com o substrato. Elas aceleram reações em cadeia e tornam as macromoléculas em precursores simples, que serão utilizadas para o crescimento das células, sendo por microrganismos do rúmen ou pelo próprio animal (GURUNG et al., 2013).

Portanto, o uso de amilase exógena seria uma estratégia para melhorar a disponibilidade desse carboidrato fermentável no rúmen. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho dos animais, digestibilidade aparente total e os fatores que influenciam a digestibilidade do amido.

2. OBJETIVOS

A presente revisão de literatura teve como objetivo verificar a relação e os efeitos das enzimas amilolíticas em dietas de vacas leiteiras com diversos fatores envolvendo o desempenho dos animais (produtivo e reprodutivo) e a saúde da vaca.

3. REVISÃO DA LITERATURA

Foi realizada uma revisão da literatura a qual permitiu verificar a importância das enzimas amilolíticas na alimentação do gado leiteiro, sob vários aspectos. Para tal e maior facilidade de abordagem do tema, serão utilizados itens e subitens envolvendo vários aspectos, tais como: definição, aspectos gerais e particularidades, consequências, mecanismo de ação e fatores relacionados com o desempenho dos animais.

Por meio do levantamento bibliográfico, foi possível proporcionar subsídios e maiores esclarecimentos sobre as enzimas amilolíticas para vacas leiteiras. Foram utilizadas informações advindas de revistas especializadas em produção animal (nacionais e internacionais), sites, boletins técnicos, teses, dissertações e livros especializados em pecuária leiteira.

3.1. Processamento de grãos de cereais

As principais fontes de energia para o gado leiteiro vêm dos carboidratos fibrosos (provenientes de forragem) e carboidratos não fibrosos. Os carboidratos não fibrosos são, em grande maioria, de grãos de cereais, incluindo o milho, sorgo, trigo, cevada e aveia. Para vacas leiteiras no Brasil o mais utilizado como principal fonte de energia é o grão de milho, em que a fonte energética dele é o amido (FIRKINS et al., 2001). A digestibilidade total de amido em vacas leiteiras varia entre 70 a 100% (FIRKINS et al., 2001) e, diversos fatores estão relacionados com a digestibilidade, sendo eles o tamanho das partículas dos grãos; método de processamento; método de colheita e armazenagem; maturidade da planta no momento da colheita; teor de umidade; processamento do grão e características do endosperma (NOCEK E TAMMINGA, 1991; JOHNSON et al., 1999; FIRKINS et al., 2001).

A semente do milho é constituída por três partes básicas morfológicas (Figura 01) sendo o pericarpo ou casca (rico em fibras), gérmen ou embrião (parte vegetativa do grão, composta por lipídios e proteínas, principalmente) e, o endosperma. O milho contém principalmente amido e proteína e o endosperma representa de 75 a 80% do grão de milho (ANDREAZZI, 2014).

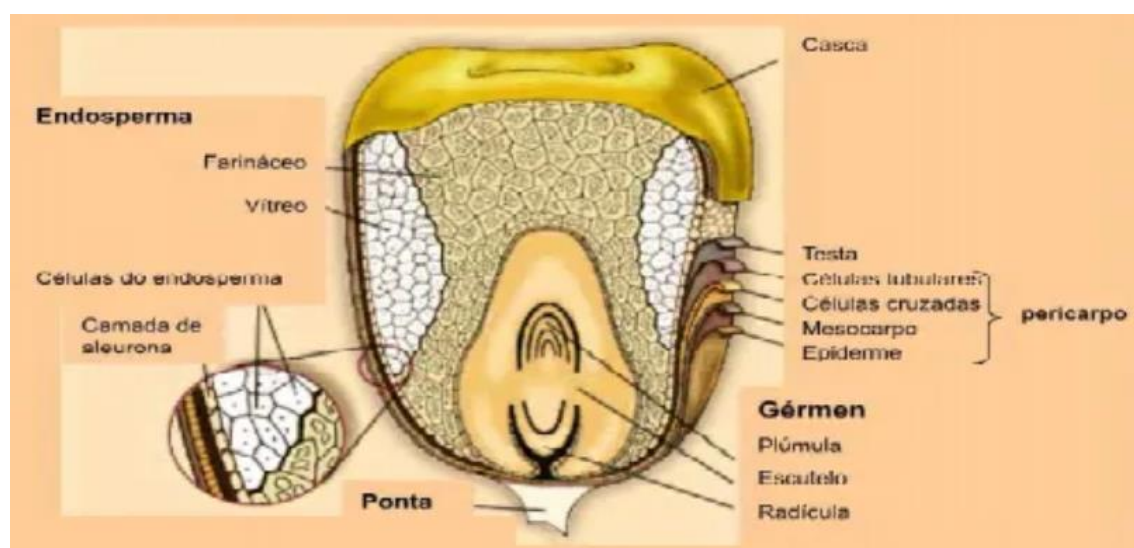


Figura 01 - Anatomia do grão de milho e suas partes. **Fonte:** adaptado de Encyclopédia Britannica (2006).

Nos confinamentos brasileiros o grão de milho mais utilizado é o tipo “Flint” (duro) (Figura 02), o qual apresente alta vitreosidade, ou seja, maior proporção de endosperma vítreo do que o endosperma total. No entanto, quanto maior a proporção do endosperma vítreo, menor é a digestibilidade do amido contido no grão (CORREA et al., 2002; CORONA et al., 2006).

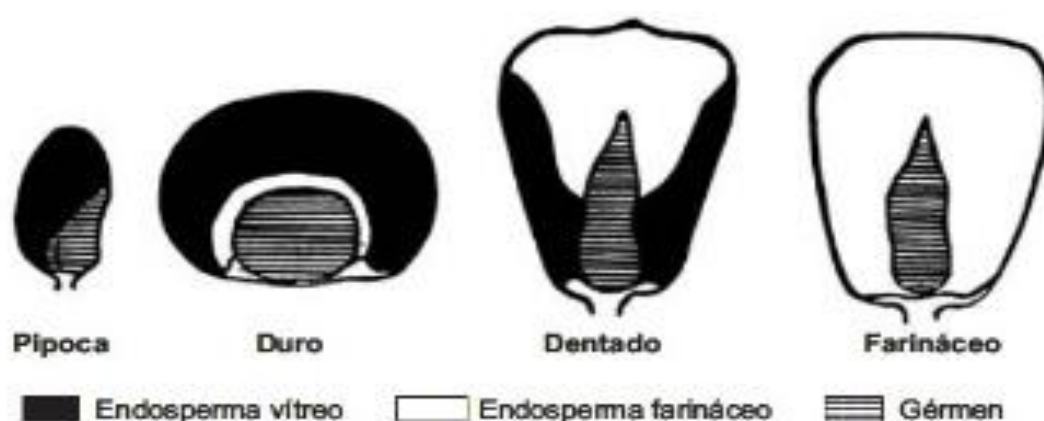


Figura 02 – Tipos de milho e as relativas proporções do endosperma farináceo e vítreo. **Fonte:** adaptado de Pereira e Antunes, 2007.

A digestão dos ruminantes é dificultada quando os grãos inteiros possuem o pericarpo intacto, sendo grande parte ou totalmente resistentes a digestão, por dificultar a fixação bacteriana (MCALLISTER et al., 1994; BEAUCHEMIN et al., 1994). Por esse fator o grão passa por processamento no qual combina calor, umidade, tempo e ação mecânica, a fim de aumentar a digestibilidade do amido e ter a possibilidade da fixação bacteriana aos grânulos de amido.

Klingerman et al. (2009) notaram diferenças na produção ruminal aparente de ácidos graxos voláteis (AGV) total *in vitro* em diferentes variedades de milho. Ao adicionar doses crescentes de amilase com os diferentes milhos, obtiveram uma interação da variedade do milho com a enzima para a produção aparente de AGV. Dessa forma, verificaram um efeito linear positivo da dose de enzima para a produção de AGV com os milhos do tipo dentado e duro, porém não verificaram o mesmo para o milho farináceo.

Portanto, a variedade do milho pode interferir na eficácia da enzima, sendo então, o uso da amilase exógena uma estratégia para melhorar a disponibilidade de amido

fermentável no rúmen. Os processamentos que são feitos com o milho têm a função de aumentar a área de superfície dos grãos, reduzindo assim, a interação da matriz proteica com os grânulos de amido ou aumentar a solubilidade dos grânulos de amido em água. Assim, os processamentos podem aumentar a disponibilidade de amido e da proteína dos grãos no rúmen e no intestino delgado e, mudar as características da taxa de passagem e do sítio de digestão e, da fermentação ruminal (THEURER, 1986).

Há dois tipos de processamentos, um deles é o processamento a seco, que pode ser a moagem fina ou grossa, tostagem, peletização, extrusão micronização e laminação. E o outro processamento envolve adição de água aos grãos, normalmente na forma de vapor e com pressão, sendo eles a maceração, laminação a vapor, floculação, reconstituição, expansão e cozimento a vapor (HALE, 1973). Ao reduzir o tamanho de partículas e aplicar o vapor, o resultado da união desses dois processos aumentam ainda mais a eficiência de digestão dos alimentos (THEURER, 1986).

Adota-se como estratégia para aumentar a digestibilidade do milho o uso de silagem de grão úmido ou reidratado, pois, quando o grão é ensilado corretamente, tem-se o aumento da digestibilidade do grão, por haver fragilização e rompimento da matriz proteica que envolve os grânulos de amido no endosperma. Para aumentar a susceptibilidade ao ataque enzimático o amido pode passar pelo processo de gelatinização (FERRARETTO et al., 2013).

Em estudo de Ferraretto et al. (2013) observaram a influência do tipo de grão, maturidade do milho e métodos de processamento no consumo de matéria seca (MS), digestibilidade e performance de vacas em lactação. Os processamentos incluíam: milho ensilado (grão úmido), milho seco moído e floculado. Notaram que a digestibilidade total de amido com o milho moído foi menor e a concentração de gordura foi maior, quando comparado com o milho grão úmido e floculado. Ao utilizar milho grão úmido e seco moído observaram que, a digestibilidade da dieta foi reduzida quando o tamanho de partícula aumentou. Nesse estudo ainda, obtiveram resultado de ter aumento na produção de leite e concentração de proteína quando tiveram maiores concentrações de amido na

dieta, entretanto, houve redução na digestibilidade da fibra em detergente neutro (FDN) e na concentração de gordura do leite.

Destaca-se que, para formular concentrados para vacas leiteiras (fazenda e indústrias) utilizam grãos de milho colhidos no estágio maduro de maturação, em que se encontram no ponto de maturidade fisiológica de máxima vitreosidade e mínima digestibilidade, exigindo assim, mais medidas para induzir o aumento na degradabilidade ruminal (PEREIRA et al., 2004). De acordo com Nocek e Tamminga (1991), o aumento da participação ruminal na digestão do amido, proporcionada pelos processamentos é benéfico, pois aumenta a disponibilidade de energia rapidamente fermentável no rúmen, obtendo aumento da produção de AGV e de proteína microbiana.

O amido dos grãos de milho e do sorgo são menos digestíveis no rúmen do que o amido de trigo, aveia e cevada, pois há forte interação da matriz proteica com os grânulos de amido e baixa digestibilidade (HOSENEY et al., 1974; MCALLISTER et al., 1990). Os grânulos de amido do milho são bem cristalizados, tornando-os menos acessíveis às enzimas, sendo ao contrário aos grânulos de amido da cevada, em que são mais acessíveis e apresentam fermentação ruminal mais intensa. Sendo assim, a taxa de fermentação de algumas fontes de amido foi classificada da seguinte maneira: aveia > trigo > cevada > milho > sorgo (MEDEIROS; MARINO, 2016).

3.2. Os aditivos na nutrição de bovinos

Em razão do crescimento populacional, há maior demanda mundial por alimentos e, esse fato é o maior incentivo para a profissionalização da pecuária leiteira no Brasil. Por outro lado, conforme há conquistas de novos mercados consumidores, há também maior demanda por produtos seguros e de qualidade e junto a isso tem-se novas políticas conservacionistas, as quais geram um grande desafio aos pecuaristas brasileiros. Em função dos custos crescentes de insumos, mão de obra e equipamentos, a margem de retorno da atividade acaba se tornando cada vez mais estreita. Além de tudo, é necessário o cumprimento das exigências ambientais e a implantação de tecnologias que garantam a qualidade dos produtos lácteos sem inviabilizar a atividade leiteira. Para que se alcance

esses objetivos é essencial que se utilize práticas que permitam o uso mais eficiente dos recursos disponíveis advindos do melhoramento genético e o adequado manejo nutricional dos rebanhos (REIS et al., 2012).

Os bovinos utilizam alimentos volumosos (forragens da pastagem – ou silagem – e grão) a fim de obter energia e proteína para seu crescimento por meio da fermentação desses alimentos no rúmen, com a ação sinérgica dos microrganismos que ali se encontram (SAMPAIO et al., 2021).

O número e a proporção de diferentes espécies de microrganismos no rúmen e a manipulação da fermentação do rúmen, são influenciados diretamente pela dieta. Dessa forma, pequenas alterações na dieta dos animais podem aumentar ou diminuir os produtos resultantes da fermentação e, conseqüentemente, isso pode alterar a disponibilidade de energia e nutrientes destinados a produção animal (SAMPAIO et al., 2021).

Uma das formas mais conhecidas de manipular a fermentação ruminal é por meio de aditivos alimentares, visto que eles podem reduzir a perda de energia advinda da produção de metano, o que não é interessante (SAMPAIO et al., 2021). Os aditivos têm sido cada vez mais utilizados na ração, já que, além de otimizar a produtividade dos animais por meio da manipulação ruminal, eles beneficiam a reduzir a emissão de metano e a excreção de nitrogênio, promovendo bem-estar e saúde animal, resultando em menores impactos ambientais (SAMPAIO et al., 2021).

Ao considerar o manejo nutricional essencial para a melhoria do desempenho nutricional, devemos entender que todo plano nutricional precisa ser capaz de atender as exigências dos animais fornecendo proteína, energia, minerais e vitaminas, visando redução do ciclo produtivo e ganhos em produtividade. Para melhorar a eficiência nutricional há estratégias como, fazer o uso de suplementação nutricional estratégico, altos níveis de proteína e energia, alimentos alternativos e uso de aditivos alimentares (SAMPAIO et al., 2021).

Como uma das alternativas mais evidente é o uso de aditivos alimentares para dieta de bovinos leiteiros, tem-se os mais utilizados por pesquisadores e nutricionistas,

como os ionóforos, antibióticos promotores de desempenho, leveduras, tamponantes, enzimas, ácidos orgânicos, extratos de plantas, própolis, entre outros (SAMPAIO et al., 2021). Os aditivos, de acordo com a Instrução Normativa (IN nº 13, de 30 de novembro de 2004) do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, são produtos destinados a alimentação animal, a fim de melhorar as características dos produtos destinados a alimentação dos animais ou dos produtos animais e que, também melhore o desempenho dos animais sadios e atenda às necessidades nutricionais. Esses aditivos podem ser divididos em antibióticos ionóforos, antibióticos não ionóforos, probióticos, enzimas, extratos naturais de plantas, entre outros.

Dos aditivos citados acima, os antimicrobianos, ionóforos ou não, são os mais utilizados e que apresentam maior segurança aos pecuaristas em relação aos benefícios oferecidos a produção leiteira. Entretanto, a União Europeia proibiu o uso deles como promotores de desempenho em 2006, liberando seu uso apenas para fins medicinais. Mesmo não utilizando esses aditivos, a comunidade europeia estabeleceu níveis considerados seguros e também monitora os resíduos dessas moléculas presentes nos produtos lácteos que são importados (REIS et al., 2012).

Na atualidade, os aditivos têm sido utilizados em dietas de vacas leiteiras nos Estados Unidos, Brasil e outros países que apresentam destaque na pecuária leiteira mundial. Como é um assunto de discussão sobre o risco de resíduos no leite e a saúde humana, pesquisas vem sendo desenvolvidas para fornecer produtos com efeito semelhante aos antimicrobianos sem que ofereça riscos à saúde dos consumidores. Com base nessa proibição do uso de antibióticos como promotores de desempenho, novas tecnologias têm sido ofertadas aos nutricionistas e produtores para a manutenção de sistemas intensivos de produção de leite (REIS et al., 2012).

Dessa forma, as enzimas digestivas são alternativas de grande interesse para a nutrição animal, pois apresentam a capacidade de promover melhorias na digestibilidade dos nutrientes e, conseqüentemente, no desempenho de vacas leiteiras (REIS et al., 2012).

3.3. Definição e tipos de enzimas exógenas

As enzimas são proteínas produzidas por microrganismos vivos que vão acelerar reações específicas por apresentar um alto grau de afinidade com o substrato (GURUNG et al., 2013). Elas fazem esse processo para tornar macromoléculas em produtos simples. Porém, para isso ocorrer é de suma importância que alguns fatores estejam estáveis a nível da natureza proteica das enzimas como a temperatura e o pH. Como as enzimas são proteínas, elas podem ser desnaturadas pelo calor o pH e também sofrer proteólise por enzimas digestivas ou bacterianas. As enzimas apresentam como característica única a afinidade por determinado substrato, em que, cada enzima vai degradar um substrato em sítio específico de reação (LEHNINGER, 2005).

O intervalo ideal de pH é entre 4 e 6 para obter melhor atividade enzimática, além de ser ideal o fornecimento adequado de substrato em contato constante e inalterado. Quando o substrato é insuficiente para saturar a enzima a taxa de conversão dela é reduzida. As enzimas podem ser inibidas ou inativas na presença de inibidores naturais ou de produtos químicos (metais pesados) (LEHNINGER, 2005).

A amilase é uma enzima que acelera a reação de hidrólise da amilopectina, da amilose e do glicogênio em maltose e dextrinas. Os ruminantes apresentam a amilase pancreática, a qual atua de forma a clivar o amido e o glicogênio que são ingeridos na dieta (TRICARICO et al., 2008). As amilases podem ser divididas em três grupos de acordo com o tipo de ligação que hidrolisam, sendo elas a α -amilase, a qual rompe as ligações no interior do substrato, a β -amilase, cuja função é hidrolisar unidades das extremidades não redutoras do substrato e, as glicoamilases, liberando unidades de glicose do terminal não redutor das moléculas do substrato (MORAES, 2004).

São conhecidas, atualmente, diversas enzimas com capacidade de hidrolisar a molécula de amido em diferentes produtos e a ação microbiana delas é essencial para que haja completa hidrólise desse carboidrato. As enzimas podem ter origens diferentes, sendo por bactérias, fungos ou leveduras. A enzima amilolítica, em específico, tem como objetivo a extração de amilase, a qual ajuda na quebra do amido em açúcares, quebrando as ligações α -1,4, resultando em mistura de glicose, maltose e dextrinas (TRICARICO et al., 2008).

O *Aspergillus oryzae* é um microrganismo e o mais utilizado na extração da amilase (TRICARICO et al., 2008). Entretanto, há também outros microrganismos que podem ser manuseados para a produção de amilase como *Bacillus licheniformis*, *Chromohalobacter sp.*, *Halobacillus sp.*, *Haloarcula hispânica* e *Halomonas meridiana* (ROJO et al., 2005; PRAKASH et al., 2009). Enquanto que, a α -amilase é a principal enzima amilolítica a ser utilizada na nutrição animal, a qual hidrolisa rapidamente os polímeros de amido em partículas (oligômeros) menores. Na hidrólise primária, a maltotriose e a maltohexose são os produtos acumulados. A α -amilase também apresenta alta estabilidade térmica, permitindo elevada taxa de sobrevivência após a quebra do alimento (TRICARICO et al., 2008).

São utilizados dois processos para a fabricação de enzimas exógenas, a fermentação em estado sólido e submersa (MURAD; AZZAZ, 2010). A fermentação submersa utiliza substratos líquidos como caldo de carne e o melaço, enquanto que a fermentação sólida se constitui de cultivo de microrganismos em substratos úmidos e sólidos como o bagaço, a palha, o farelo de aveia e outros subprodutos (SUBRAMANIYAM; VIMALA, 2012). O método de fermentação submersa é, em média, 90% usado para produção das enzimas comerciais, pelo fato de que a permite melhor controle das condições que ocorrem durante o processo. Em contrapartida, a fermentação em estado sólido cria contato firme com substrato insolúvel, atingindo maior concentração de substrato para a fermentação.

No entanto, como a fermentação sólida envolve menos líquido do que a submersa, ele acaba se tornando um método, teoricamente, mais simples e menos custoso (SUJANI; SERESINHE, 2015). A fermentação submersa é a mais desfrutada devido a fatores que incluem: 1) as bactérias têm maior taxa de crescimento do que os fungos, tornando possível a maior produção de enzimas recombinantes; 2) enzimas bacterianas são mais complexas e, geralmente, apresentam maior atividade e sinergismo; e 3) as bactérias habitam grande variedade de ambientes com diferentes temperaturas e pH (IMMANUEL et al., 2006).

3.3.1. Algumas particularidades das enzimas exógenas

As enzimas são proteínas produzidas a partir de microrganismo vivo após um processo fermentativo, podendo ser por bactérias, fungos ou leveduras. Após esse processo há a separação das enzimas dos resíduos de fermentação desses microrganismos. Uma particularidade das enzimas é a especificidade por substratos, em que ela faz a degradação deles em sítios específicos de reações (SAMPAIO et al., 2012).

Essa particularidade da enzima é essencial e, em estudos de Morgavi et al. (2000), observaram a adição das enzimas diretamente no alimento e puderam verificar maior estabilidade enzimática devido a formação do complexo enzima-substrato, dificultando a ação de proteases microbianas no rúmen. Ao formar esse complexo tem-se também o aumento do seu tempo de permanência no rúmen, por não estar dissolvida no fluido. Quando não há formação do complexo as enzimas se solubilizam no líquido ruminal e partem rapidamente para o intestino (BEAUCHEMIN et al., 2003).

As enzimas precisam de um ambiente adequado para agirem com maior precisão e para isso ocorrer é necessário a umidade, essencial para sua mobilidade e para a solubilidade do substrato. Além disso, a atividade enzimática aumenta 40°C e, após isso, sua atividade diminui bruscamente devido a perda da estrutura por desnaturação. Grande parte das enzimas são desnaturadas quando o ambiente apresenta pH muito baixo ou muito alto, visto que, o pH ótimo encontra-se entre 4 a 6. Em relação a taxa de reação, ela aumenta quando há presença de concentrações adequadas de enzima, esse aumento ocorre conforme a concentração de substrato até que o ponto máximo seja atingido, ou seja, quando há mais sítios de ligação no substrato do que enzima para se ligar (AEHLE, 2004).

Dependendo da origem das enzimas, sejam elas fúngicas, bacterianas ou levedura, necessitam de diferentes condições ambientais para agirem com máxima potencialidade em suas atividades e para alcançarem essa potencialidade elas dependem de algumas condições, dentre elas a umidade, temperatura, pH, concentração de enzimas e de substratos (AEHLE, 2004).

Em relação a enzima amilolítica, a principal utilizada é a α -amilase, a qual hidrolisa os polímeros de amido em partículas menores. Portanto, na hidrólise primária os produtos gerados são maltotriose e maltohexose. A α -amilase apresenta alta estabilidade térmica, isso permite que tenha alto grau de sobrevivência após a quebra do alimento. Ao incluir enzima amilolítica, principalmente com atividade α -amilase, tem-se o objetivo de melhorar a digestibilidade do amido no rúmen (NOZIÈRE et al., 2014) e aumentar o desempenho dos animais (TRICARICO et al., 2005).

Ao utilizar essa enzima, notaram efeitos positivos no aumento da digestibilidade da FDN e proteína bruta (PB) em vacas leiteiras (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; WEISS et al., 2011) e também melhorias no balanço de energia de vacas de transição (DEFRAIN et al., 2005).

De acordo com Beauchemin et al. (2003), as enzimas, quando aplicadas na forma líquida nos alimentos antes do consumo pelos animais, são mais efetivas. Os efeitos pré-ingestivos ajudam a eliminar as barreiras estruturais que limitam a digestão microbiana do alimento no rúmen e causam liberação dos carboidratos solúveis. Ao aplicar no alimento tem-se também o aumento da estabilidade ruminal, que vai melhorar a ligação da enzima com o substrato, resultando em um aumento da sua resistência a proteólise (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Outros mecanismos de ação das enzimas no rúmen são, a hidrólise direta, estimulação da população microbiana, sinergismo com enzimas microbianas e o aumento na adesão microbiana, sendo uma atuação rápida no rúmen e em poucas horas após a sua inclusão (SAMPAIO et al., 2012). Outros benefícios das enzimas exógenas são o aumento da disponibilidade de polissacarídeos de reserva, gorduras e proteínas, que são protegidas da atividade digestória pelos polissacarídeos da parede celular e, também minimizam os efeitos negativos proporcionados pelos fatores antinutricionais que fazem parte de alguns ingredientes e otimizar a atividade enzimática endógena, principalmente para animais jovens, que apresentam o sistema enzimático imaturo (SAMPAIO et al., 2012).

Há também limitações para o uso das enzimas, uma delas é devido aos vários tipos de forragens fornecidas aos animais, tornando assim, um problema de especificidade

enzimática. No entanto, geralmente as respostas positivas com o uso das enzimas ocorre quando a energia é limitante para a produção, principalmente quando se trata de vacas de alta lactação (SAMPAIO et al., 2012).

Os nutricionistas de ruminantes dão pouca atenção as enzimas amilolíticas, quando comparadas com as fibrolíticas. Para explicar tal ocorrência, uma das hipóteses é a de que a ingestão de amido pelos animais é relativamente alta (as vezes, mais de 90%) e geralmente não é um fator limitante na produção, o que acontece quando a digestão da fibra é baixa ou lenta. Além de que, a digestão rápida de amido em excesso no rúmen pode causar acidose, mostrando aí uma preocupação da inclusão dessa enzima na dieta dos ruminantes (OWENS et al., 1998).

As enzimas amilolíticas e fibrolíticas exógenas podem melhorar a digestibilidade da fibra e, por consequência, melhorar também o aproveitamento do amido de vacas em lactação e a eficiência de utilização do alimento (HRISTOV et al., 2008).

3.3.2. Importância das enzimas exógenas

A inclusão de amilase em dietas de vacas leiteiras de alta produtividade tem a função de aumentar o aproveitamento dos carboidratos presentes nas rações. Em animais não-ruminantes, as glândulas salivares secretam amilase assim que o alimento entra na boca para dar início a quebra do amido. Entretanto, os ruminantes não apresentam a amilase salivar (MCDUGALL, 1948), dessa forma, a responsabilidade de degradar o amido é da população microbiana presente no rúmen do animal.

De acordo com Huntington (1997), a digestão ruminal do amido é um dos fatores que determina o desempenho dos ruminantes alimentados com dietas de alto concentrado. Dessa forma, a enzima pode ser aproveitada para diminuir as variações inexplicáveis da degradação ruminal de amido em fontes ricas desse componente na dieta. A suplementação com α -amilase, teoricamente, aumenta a disponibilidade dos produtos resultantes da hidrólise do amido no rúmen, de forma a alterar os processos de fermentação ruminal.

Quando se adiciona as enzimas na dieta de vacas em lactação, a população microbiana atua de forma cooperativa com a ação da atividade enzimática no sítio de ligação favorecida pela inclusão da enzima (Figura 03), assim, o resultado é a melhora de fatores como a fixação microbiana ao substrato (BEAUCHEMIN et al., 2003; IMMANUEL et al., 2006). E, como consequência, pode também melhorar a digestibilidade da dieta, por haver aumento da atividade enzimática no rúmen (SELL RAVINDRAN, 2007).



Figura 03 – Complexo enzima-substrato. **Fonte:** <https://www.todoestudo.com.br/biologia/enzimas>.

Com a inclusão de enzimas exógenas nas dietas há diversos benefícios, como a capacidade de degradar ligações específicas dos alimentos que, normalmente, não são hidrolisadas por enzimas digestivas endógenas; inibição de fatores antinutricionais que prejudicam a digestão dos alimentos, permitindo o rompimento de barreiras presentes nos grãos para assim, liberarem os nutrientes, trazendo benefícios a síntese de proteína microbiana pelos microrganismos ruminais; as enzimas podem permitir a mudança no sítio de digestão para locais com maior eficiência de absorção, a fim de transformar nutrientes em energia (SELLE E RAVINDRAN, 2007).

A alta degradação do amido no rúmen fornece substrato para comportar a produção de (AGV) e o crescimento da população microbiana e, por conseguinte, a

produção de enzimas microbianas e a produção de proteína microbiana. Essa degradação enzimática é importante para o metabolismo do corpo inteiro, pelo fato de que os precursores de glicose e outros “combustíveis” são gerados por meio dele para o metabolismo hospedeiro-animal (LEMOSQUET et al., 2009).

Para a produção de silagem no Brasil o milho mais utilizado é o tipo duro e, mesmo com cuidados na moagem, no tratamento térmico e na ensilagem, ainda há dificuldades na digestão do alimento e, conseqüentemente, na absorção do amido contido no milho. Segundo Pereira (2017), o produtor de milho não demonstra interesse no produto final (leite), sendo um problema para o pecuarista. Por esse motivo, há perdas de nutrientes, que resulta na perda fecal de amido, sendo esse, um problema comum nas fazendas brasileiras e, é por esse fato que os pecuaristas buscam melhorar o aproveitamento da ração animal.

De acordo com Pereira (2017), em uma dieta para o gado leiteiro contendo até 30% de amido, o ideal é que tenha somente 5% de amido nas fezes. Ou seja, 95% do amido presente na alimentação do animal foi digerido. Entretanto, esse resultado pode ser alcançado a partir de algumas modificações na dieta e com o uso de enzimas exógenas, como a amilase. Ao utilizar α -amilase ela reduz a secreção de amido nas fezes, proporciona melhor ambiência ruminal e reduz a excreção de amido nas fezes, fornecendo melhor eficiência alimentar e, conseqüentemente, redução do custo de produção da arroba produzida no confinamento.

A amilase faz a hidrólise do amido no rúmen, transformando-o em oligossacarídeos, que é estável no rúmen (em pH e temperatura) e não causa redução no pH ruminal, trazendo resultados benéficos, de ter mais controle da acidose e melhorar o metabolismo energético do bovino confinado. A adição de amilase foi estudada como um método para aumentar a degradabilidade do amido no rúmen, porém a literatura sugere que a amilase pode melhorar a produtividade de vacas em lactação, independente de efeitos na digestão do amido do trato total (DEFRAIN et al., 2005; CABRITA et al., 2007; FERRARETTO et al., 2011).

Certamente, o aumento na digestibilidade da FDN é a resposta mais consistente vindo da amilase exógena (BOWMAN et al., 2002, GENCOGLU et al., 2010).

Portanto, as enzimas permitem o maior aproveitamento dos nutrientes presentes nos alimentos quando degradam componentes específicos da dieta, o que resulta no aumento da eficiência alimentar (BARLETTA, 2011).

3.4. Amido e as enzimas amilases

Os alimentos como milho, cevada, trigo, arroz e sorgo são utilizados para a produção animal como fonte primária de energia, a fim de aumentar as produções de carne e leite. Os cereais são ricos em amido, apresentando desde 40% da MS (como no trigo), até 80% da MS (como no arroz), sabendo que há uma variação do teor de amido, o qual depende do local, das condições climáticas e das práticas agronômicas (NOZIÈRE et al., 2010; GIUBERTI et al., 2014). Em alimentos como a silagem de grão úmido e a silagem de milho, pode-se esperar teores de amido por volta de 20% até 60% da MS, os quais são influenciados pela maturidade da planta no momento da colheita (GIUBERTI et al., 2014).

A necessidade de aumentar a eficiência de produção de ruminantes foi alcançada em grande parte com o fornecimento de mais alimentos concentrados. Os grãos de cereais são constituídos principalmente de amido e os grãos são os principais componentes dos alimentos concentrados, em que são submetidos primeiramente à fermentação microbiana no rúmen com a produção de AGV e, posteriormente, à digestão enzimática no intestino delgado, onde é absorvido como glicose (TESTER et al., 2004).

O amido é um polissacarídeo não estrutural sintetizado pelas plantas a partir da sacarose proveniente da fotossíntese. Por meio de reações, envolvendo diversas enzimas e translocadores, a sacarose é convertida em resíduos de glicose. Esses resíduos são reunidos pelas amido sintetases, formando enfim, a molécula de amido (TESTER et al., 2004). As moléculas do amido, amilose e amilopectina, são mantidas juntas por meio das ligações de hidrogênio e seus grânulos são insolúveis em água fria, devido a sua estrutura que formam “pseudo cristais”, tornando-as resistentes a água.

O amido está em alta concentração nas sementes, como fonte de nutrientes para o desenvolvimento do embrião da planta e, apesar disso, ele também é encontrado em outras partes como raízes, caules e folhas, com a função de reserva energética nos períodos de dormência, crescimento e rebrota (ROONEY; PFLUGFELDER, 1986). Nos alimentos o amido pode ser classificado das seguintes formas: 1) ceroso (waxy), quando a porcentagem de amilose é baixa (<15%); 2) normal, quando a amilose representa 20 a 35%; ou 3) rico em amilose, quando é maior do que 40% do conteúdo de amido (TESTER et al., 2004). Nos cereais há presença de componentes que estão associados aos grânulos de amido como lipídios, proteínas e minerais. Em relação aos lipídios e proteínas, eles são os compostos não-amiláceos e que podem afetar o estado físico e a susceptibilidade da hidrólise do amido em animais de produção (CORNELL et al., 1994; BALDWIN, 2001).

A digestibilidade do amido é inversamente proporcional ao teor de amilose e o principal constituinte do amido do milho é a amilopectina, em média de 70 a 80%. Dessa forma, fontes de amido com maiores teores de amilopectina podem apresentar maior digestibilidade (ROONEY; PFLUGFELDER, 1986; JOBIM et al., 2003). E, ao degradar o amido, ele gera produtos como oligossacarídeo, dissacarídeos ou monossacarídeos, os quais são absorvidos pelas bactérias e são utilizados para a síntese de proteína microbiana e produção de ácidos graxos de cadeia curta (KOSLOSKY, 2009).

Esse carboidrato participa de processos importantes no metabolismo dos microrganismos ruminais, a microbiota depende de esqueletos de carbono e da disponibilidade de energia (ATP) para a síntese de proteínas. Ao fornecer esse carboidrato, diversos estudos mostraram que, o fornecimento de amido e proteínas de rápida degradação estimulam maior síntese ou eficiência de síntese de proteína microbiana. Portanto, a taxa de fermentação do amido varia por tipo de grão e processamento. Alteração do carboidrato não fibroso (CNF) da dieta influencia o percentual de gordura do leite (SIEVERT e SHAVER, 1993; SUTTON E BINES, 1987).

Diversos fatores vão influenciar no aproveitamento do carboidrato, isso inclui o tipo de amido e o seu processamento, a interação com os componentes da dieta e a

maturidade do milho, que vão interferir na capacidade produtiva de vacas leiteiras (MILLS et al., 2017). O amido tem alta capacidade de sofrer degradação por microrganismos do rúmen e até 50% pode não ser degradado e escapar para o intestino delgado (MILLS et al., 1999). No intestino delgado, a digestão enzimática do amido em ruminantes é semelhante à de outras espécies monogástricas. A α -amilase é secretada pelo pâncreas e ela vai hidrolisar a amilose e a amilopectina, resultando em dextrinas (principalmente a partir da hidrólise de oligossacarídeos de amilopectina) e oligossacarídeos lineares de dois a três unidades de glicose (GRAY, 1992; HARMON, 1993).

A digestão do amido no intestino delgado, seguida pela absorção de glicose, pode evitar ineficiências da fermentação no rúmen (REYNOLDS et al., 2014). Porém, o amido que vai para o intestino delgado é menos digestível do que aquele digerido no rúmen. Ainda, O amido que escapa da digestão enzimática no intestino delgado (conhecido como amido resistente) pode ser fermentado no intestino grosso pelos microrganismos anaeróbicos, sendo semelhante a fermentação ruminal ou pode ser eliminado diretamente nas fezes (REYNOLDS et al., 2014).

Os lipídios que estão ligados aos grânulos de amido podem estar na superfície e também no interior do grânulo de amido (SOUTH et al., 1991), sendo que os lipídios são, normalmente, ácidos graxos livres e fosfolipídios, podendo estar ligados em mais de 55% da fração de amilose nos grânulos de amido em cereais (BLAZEK, 2008). A junção do amido e do lipídio é denominado complexo amido-lipídico e ele causa diminuição da digestão do amido por reduzirem o contato entre enzima e substrato. Além do mais, a quantidade do complexo está associada negativamente a intensidade de turgidez do grânulo, devido ao aumento da hidrofobicidade (VASANTHAN; BHATTY, 1996).

Consequentemente, a digestibilidade do amido pode ser prejudicada, pois a água é essencial para a degradação do amido, por meio das enzimas. A eficiência de utilização do amido é maior quando é fermentado extensivamente no rúmen (HUNTINGTON, 1997) e, vários estudos observaram melhoras no desempenho dos ruminantes quando

ofereceram fontes de amido processado, a fim de aumentar a digestibilidade ruminal (OWENS et al., 1986; THEURER et al., 1999).

A digestão do amido no rúmen é benéfica, pois aumenta o fluxo duodenal de proteína microbiana. Como exemplo, tem-se que, o fluxo de proteína microbiana teve um aumento de 2,2 para 2,8 Kg/d quando vacas foram alimentadas com fonte de amido, respectivamente, de baixa e alta taxa de degradação ruminal (POORE et al., 1993).

A quantidade ótima de amido dietético varia de acordo com alguns fatores, como a degradabilidade inerente à fonte de amido, o tipo de processamento, a quantidade de proteína solúvel, a fibra insolúvel em detergente neutro e o método de alimentação. Para modificar a disponibilidade de amido na dieta é necessário mudar as proporções dos carboidratos, como do amido e FDN. O aumento efetivo no conteúdo de energia da dieta pode ser menor do que o previsto quando isso não acontece (WEISS e SHOCKEY, 1991), pois se o amido substitui a fibra dietética da forragem, a digestão de FDN acaba sendo reduzida (BECKMAN e WEISS, 2005; FIRKINS, 2001). Ainda não há uma boa definição do teor ideal de amido para dietas de vacas leiteiras em lactação, porém, 25% de amido (base da MS) tem sido sugerido como base na revisão de Staples (2007).

As recomendações mais utilizadas, normalmente, para quantidade de amido na MS para vacas em lactação é de 23 a 30%, de acordo com Grant (2005). Em pesquisa de Shaver (2010) teve o relato com rebanhos leiteiros comerciais de alta produção realizado em Wisconsin e Michigan, concentrações de amido médio na dieta de 27% e entre 25 e 30% em dietas com 21% de FDN vindo de forragem (base da MS).

Entretanto, o aumento do preço do milho criou maior interesse em utilizar amido nas dietas com a intenção de melhorar a sua digestibilidade e o aproveitamento animal. Com melhor aproveitamento do amido, é possível o uso reduzido dele em dietas sem comprometer o desempenho produtivo. Batajoo e Shaver (1994) concluíram que, para vacas com produção de mais de 40 Kg de leite, a dieta deve apresentar mais de 30% de CNF, porém não é necessário aumentar para 42%, visto que, encontraram poucos benefícios. Segundo Nocek e Russell (1988), dietas com 40% de CNF foi o mais

adequado para vacas em lactação, a partir de dietas à base de silagem de alfafa e silagem de milho e, variação de 30 para 46% de CNF.

Hoover e Stokes (1991) analisaram dados de Nocek e Russell (1988) puderam observar que, quando o CNF dietético é maior do 45 a 50% ou menor de 25 a 30%, a produção de leite diminui. Já em outro estudo, ao aumentar CNF na MS da dieta de 41,7 para 46,5%, a porcentagem e a produção de proteína do leite aumentaram (MINOR et al., 1998).

Há diversos fatores que influenciam a taxa e a extensão da digestão de amido pelo ruminante, interferindo na quantidade de amido que será fermentado no rúmen ou o que vai chegar no intestino delgado. Dentre os fatores, tem-se a composição química e a forma física do amido, presença de barreiras físicas nos grãos de cereais, fatores antinutricionais, forma física do alimento fornecido e diferentes tipos e intensidades de processamentos aplicados aos alimentos (MINOR et al., 1998). McAllister et al. (1993) e Cheesson e Forsberg (1997) ponderaram que, na prática, a extensão da digestão do amido no rúmen é mais determinada pela natureza do material que envolve e protege o grânulo do amido, do que a própria composição química do amido. A taxa de degradação da parede celular endospermáticas e a matriz proteica determinam o acesso dos microrganismos rumiais aos grânulos de amido.

Atualmente, há diversas enzimas que hidrolisam as moléculas de amido em diferentes produtos e a ação delas é muito importante e necessária para que haja uma hidrólise completa desse carboidrato (MCALLISTER et al. (1993) e CHEESSON e FORSBURG, 1997).

3.4.1. Relação da degradação e digestibilidade do amido com as enzimas amilolíticas

Para a enzima agir, é essencial que ela tenha contato com o substrato e para isso ocorrer Morgavi et al. (2000) realizaram estudos adicionando as enzimas diretamente nos alimentos e puderam observar que houve maior estabilidade enzimática devido a formação do complexo enzima-substrato, o qual dificulta a ação de proteases

microbianas. Esse complexo também aumentou o seu tempo de permanência no ambiente ruminal, por não estar dissolvida no fluido ruminal. Quando esse complexo não se apresenta estável, as enzimas se solubilizam no líquido ruminal e vão rapidamente para o intestino (BEAUCHEMIN et al., 2003).

Dietas incluindo ingredientes com alto teor de amido pode favorecer alterações no trato digestivo dos ruminantes e até resultar em uma deficiência na digestão dessa fonte de amido, podendo haver perdas do nutriente nas fezes. As enzimas podem agir diretamente nos alimentos do rúmen ou estimular de forma indireta a digestão, potencializando as atividades das enzimas microbianas (MCALLISTER et al., 2001). Morgavi et al. (2000) observaram um sinergismo entre as enzimas exógenas e microbianas, pelo aumento hidrolítico no meio ruminal.

As enzimas aumentam a disponibilidade de carboidratos fermentescíveis que ajudam no crescimento e multiplicação dos microrganismos ruminais. Portanto, maior o número de bactérias, significa uma digestão mais extensiva da dieta total (LEWIS et al., 1996; BEAUCHEMIN et al., 2000). Por meio da ação hidrolítica, a α -amilase aumenta a disponibilidade de produtos que resultam da hidrólise do amido no rúmen, como os oligossacarídeos e, como consequência tem-se a alteração do processo de fermentação ruminal por fornecer substratos mais facilmente hidrolisáveis pelos microrganismos ruminais e por fim, aumentar a degradação do amido no rúmen (TRICARICO et al., 2008).

De acordo com o resultado de Tricarico et al. (2005), DiLorenzo et al. (2011) e McCarthy et al. (2013), durante o teste de metabolismo, teve ausência de efeito da amilase sobre a digestibilidade da MS e dos nutrientes. No entanto, segundo Nozière et al. (2014), relataram que não houve diferença na digestibilidade de amido, considerando o trato total, porém, observaram um aumento da digestibilidade ruminal do amido de 75% na dieta controle para 81% com a adição da amilase em vacas de primeira lactação que foram alimentadas com altas e baixas concentrações de amido.

Estudos utilizando α -amilase proveniente de *Aspergillus oryzae* mostraram que a suplementação com a enzima não aumentou a digestibilidade do amido, porém modulou

a fermentação ruminal, resultando em aumento da concentração de acetato e butirato e queda da concentração de propionato (TRICARICO et al., 2005; KLINGERMAN et al., 2009), isso se deve a alteração da população microbiana no rúmen ou do metabolismo microbiano (TRICARICO et al., 2008).

O aumento da digestibilidade de nutrientes não amiláceos se dá pela teoria de Tricarico et al. (2008), a qual diz que enzimas amilolíticas exógenas (como as provenientes de *Aspergillus oryzae*) alteram o metabolismo microbiano ou a população microbiana no rúmen. Ao suplementar com α -amilase há o aumento da produção de maltodextrinas, as quais podem ser utilizadas por diversas bactérias, englobando amilolíticas ou não-amilolíticas. Dessa forma, em estudos que se adicionaram α -amilase em dietas ricas em amido, analisaram a alteração no metabolismo microbiano, a qual se deu consequentemente pelo crescimento de espécies bacterianas não-amilolíticas de forma mais rápida do que as bactérias amilolíticas, propondo que, de fato, a população produtora de acetato e butirato se beneficiam da α -amilase (COTTA et al., 1988).

Ao modificar o local e a taxa de digestão de amido pode ter contribuição para maior rendimento do leite, observado em vacas tratadas com amilase, pois maior digestão ruminal do amido, mais energia é fornecida para os microrganismos ruminais, portanto, maior a produção de proteína microbiana (POORE et al., 1993). Dietas com amido, a monensina diminui a porcentagem de amido digerido no rúmen e aumenta a quantidade digerida no intestino, essa mudança do local de digestão tem a função de resultar mais energia, que é absorvida como glicose no intestino do que como ácido graxo volátil no rúmen, permitindo o uso mais eficiente da energia (POORE et al., 1993). Além disso, a monensina pode aumentar a capacidade enzimática para digerir o amido localizado no intestino delgado, consequentemente, maior atividade de amilase é encontrada nas fezes e pâncreas de bovinos que receberam monensina (EMBRAPA, 2006).

Há um problema em mudar a digestão do amido de local, que é ter maior quantidade do carboidrato chegando no intestino grosso, a qual aumentará a fermentação no local. A digestão intestinal tem variado <1% a 12% do total consumido (GRESSLEY et al., 2011). O problema é que, mesmo a fermentação produzindo AGV no intestino

grosso, uma parte é perdida nas fezes e pouca proteína microbiana é absorvida. Além de tudo, as altas taxas de fermentação de carboidratos não-fibrosos no intestino grosso resultam em rápida produção de AGV, consequentemente vai diminuir o pH fecal e determinar a acidose intestinal (WHEELER; NOLLER, 1977; GRESSLEY et al., 2011).

3.4.2. Mecanismo de ação das enzimas amilolíticas

Algumas enzimas são mais eficientes quando são aplicadas em alimentos com maior umidade, como as silagens, já que apresentam maior teor de água, sendo um fator importante na hidrólise de polímeros de açúcares solúveis (BEAUCHEMIN et al., 2003). Há também possibilidade de enzimas serem mais eficientes quando adicionadas de forma líquida em alimentos mais secos, como os fenos (REDDY et al., 2016). Comumente, as enzimas são estáveis no rúmen, principalmente quando são adicionadas com os alimentos, como na mistura total da ração (TMR) ou no concentrado. Isso se dá pelo menor pH e menor proteólise, os quais ocorrem logo após a alimentação das vacas, ajudando a estabilizar as enzimas e melhorando sua eficiência (HRISTOV; MCALLISTER; CHENG, 1998; MORGAVI et al., 2001).

É necessário diversas enzimas e processos mecânicos para a degradação do amido nos ruminantes, em que se inicia com a mastigação e ação da amilase salivar (quantidade insignificantes), ação da microbiota ruminal, hidrólise ácida no abomaso e ação de enzimas e microrganismos ao longo do lúmen intestinal (SWENSON; REECE, 1986). O amido é degradado no rúmen e utilizado por bactérias e protozoários (VAN SOEST, 1994).

Há diversos métodos para utilizar as enzimas para ruminantes, porém ainda não foi estabelecido o mais efetivo. Esses métodos variam desde um pré-tratamento do alimento por um período de tempo antes da alimentação (como durante o processo de ensilagem ou durante a colheita da forragem) até a aplicação na hora da alimentação (na mistura total da dieta ou no concentrado). A adição da enzima exógena tem sido utilizada na mistura da dieta total (BEAUCHEMIN et al., 1999; PHIPPS et al., 2000^a; YANG et al., 2000), na ensilagem de forragem (BEAUCHEMIN et al., 1995; PHIPPS et al., 2000^b), no concentrado (RODE et al., 1999), em suplemento (BOWMAN et al., 2002), ou em

uma pré-mistura (BOWMAN et al., 2002). No entanto, espera-se que as enzimas sejam mais efetivas quando adicionadas em alimentos com alta umidade (silagens), do que em alimentos secos, pois a água é necessária para hidrólise de polímeros complexos a açúcares solúveis, sendo um princípio bioquímico (LEHNINGER, 1982).

As enzimas que compõem os produtos são relativamente estáveis no ambiente ruminal, principalmente quando são fornecidos juntos com os alimentos (HRISTOV et al., 1998; MORGAVI et al., 2000, 2001). Após alimentação, há redução da atividade proteolítica e menor pH, portanto, essas condições ajudam a aumentar a estabilidade das enzimas (MORGAVI et al., 2001).

De acordo com Yang et al. (2000), observaram que ao aplicar a enzima, de forma líquida, no alimento seco, gera um complexo estável entre enzima e alimento, ou seja, aumenta a eficiência da enzima. Esse complexo ocorre rapidamente (algumas horas) e uma vez estabilizado no alimento seco, a eficiência das enzimas duram várias semanas. A degradação por proteases microbianas ou a passagem do líquido ruminal para o omaso pode causar a perda de atividade enzimática exógena no rúmen.

Houve comparativo com os efeitos de borrifar enzimas na forragem e adicionar a enzima diretamente no rúmen via cânula. Quando a enzima foi aplicada sobre o alimento a digestibilidade da MS e da fibra foram maiores. A adição direta da enzima no rúmen diminuiu a digestibilidade da MS. Portanto, esses resultados mostraram que algumas misturas enzimáticas terão pouco ou nenhum efeito benéfico, quando não aplicadas e estabilizadas no alimento (TREACHER et al., 1996).

Tricarico et al. (2008) sugerem que a suplementação de α -amilase advinda de *Aspergillus oryzae* não aumenta a digestibilidade ruminal do amido, porém, altera a fermentação ruminal para maior proporção de butirato e acetato e, diminuição de propionato, devido a alteração da população microbiana ou alteração do metabolismo microbiano no rúmen.

3.5. Desempenho de vacas leiteiras alimentadas com enzimas amilolíticas

As vacas leiteiras, além de apresentar requisitos para manutenção e crescimento, sofrem maior demanda de nutrientes durante a fase de lactação. Dessa forma, os carboidratos são utilizados como a principal fonte de energia e normalmente ele oferece mais da metade da energia nas dietas de gado (NAFIKOV e BEITZ, 2007). Nos Estados Unidos, por exemplo, a maioria da dieta para gado leiteiro em lactação contém de 25 a 30% de amido (ELLIS et al., 2011; DEVRIES e GRILL, 2012; GOLDER et al., 2012).

O resultado de uma alimentação com elevada quantidade de amido na dieta é devido a necessidade de satisfazer as exigências energéticas de vacas em lactação de alto desempenho. O teor comumente encontrado em dietas de vacas leiteiras é por volta de 24 a 26% da MS (STAPLES, 2007). No Brasil, o teor de amido em dietas é elevado, sendo entre 25 a 28% na região sul e, 26 a 30% na região sudeste do país. Esse fato é explicado pelas principais fontes de amido serem o milho e o farelo de soja, enquanto que, no país americano é utilizado fontes alternativas de amido na dieta. O amido ainda contribui entre 50 e 75% do valor energético da silagem e do grão de milho, respectivamente (NRC, 2001).

A adição de enzimas amilolíticas na dieta pode aumentar o desempenho produtivo dos animais, de acordo com diversas evidências em estudos *in vitro* e *in vivo*. A digestibilidade ruminal do amido de sorgo e milho aumentou devido ao uso da amilase proveniente de *Bacillus licheniformis* (ROJO-RUBIO et al., 2001). Além disso, Tricarico et al. (2005) observaram que houve uma resposta quadrática na produção de leite ao suplementar amilase proveniente de *Aspergillus oryzae* em doses crescentes para vacas leiteiras, apresentando resultado na produção de leite de até 1,5 Kg/d.

A maior parte do amido é fermentada pelos microrganismos ruminais, cerca de 70 a 85% e, a concentração desse carboidrato nas dietas de vacas leiteiras confinadas varia de 20 a 40% da MS da dieta. Apesar de grande parte do amido ser fermentada no rúmen, uma quantidade expressiva de amido pode ser digerida no duodeno ou fermentada no intestino grosso (FOLEY et al., 2006).

Há estudos de que a glicose absorvida no intestino pode aumentar a lipogênese no omento (prega cuja função primária é armazenar gordura). A infusão de glicose no

duodeno aumenta a deposição de gordura no omento e não aumenta o peso de carcaça dos animais (RUST, 1992; MCLEOD; HARMON, 2007). Se a absorção de glicose no intestino pode aumentar a deposição de gordura ao redor do próprio intestino, a digestão pós-ruminal do amido não se torna interessante para a lactação, mesmo que limite as perdas de energia por metano e calor, que estão associadas a fermentação ruminal (RUST, 1992; MCLEOD; HARMON, 2007).

Em estudo de Vicini et al. (2003) eles não observaram diferenças na produção de leite ao adicionar enzimas na dieta de vacas leiteiras. Um dos motivos de não obter a resposta de uma das enzimas foi de que 2/3 da atividade enzimática foi reduzida ao ser avaliada em pH ruminal e outros 2/3 da atividade enzimática foi reduzida ao avaliar a temperatura do rúmen. Em uma meta-análise, realizada por Ortiz-Rodea et al. (2013), investigaram os efeitos de enzimas exógenas na alimentação de ruminantes na produção e composição do leite. Esse estudo foi constituído de 29 experimentos, contendo 52 tratamentos, 9 enzimas e 1187 animais e, pode-se concluir que, a adição de enzimas não afetou a produção de gordura, lactose e proteína do leite, nem suas respectivas concentrações.

Chen et al. (1995) fizeram avaliação dos efeitos da enzima fúngica (com atividades de amilase e protease) na resposta produtiva de vacas leiteiras, em que receberam sorgo laminado ou floculado. As vacas que receberam em média 30% de amido na dieta estavam no meio da lactação (110 +- 70 dias). Logo, os autores não observaram efeitos da enzima para ingestão de MS, produção (35,65 Kg/d) e composição do leite dos animais. Contudo, puderam observar aumento da digestibilidade aparente total da PB (P = 0,05) sem afetar a digestibilidade aparente total da MS.

Foi avaliado por Tricarico et al. (2005) doses crescentes de um extrato de *Aspergillus oryzae* em dieta, contendo atividade de α -amilase (Amaize, Alltech Inc. Nicholasville, KY, EUA) no desempenho produtivo de vacas em meio de lactação (121 +- 74 dias), recebendo dieta com 27,1% de amido. Foi encontrado pelos autores o efeito quadrático positivo para a produção de leite (sem correção, corrigida para gordura e energia), sem que os tratamentos afetassem a composição do leite e a ingestão de MS.

Ainda, teve aumento linear de acetato e queda da proporção de propionato no rúmen devido a suplementação com enzimas.

Nos estudos de DeFrain et al. (2005), suplementaram vacas no período de transição (- 21 a 21 dias relativos ao dia do parto) com α -amilase e não observaram diferenças na ingestão de MS, produção e composição do leite. Para mais, não observaram diferenças nas concentrações de glicose sanguínea. No período pré-parto e pós-parto, com a suplementação de enzima exógena, a fermentação ruminal não foi afetada.

Em avaliação de Klingerman et al. (2009), foram avaliados os efeitos de duas enzimas na fermentação ruminal de milho *in vitro*, sendo uma enzima experimental (7B) e uma comercial (Amaize, Alltech Inc.). Esse estudo também avaliou as enzimas no desempenho de vacas em início de lactação (68 $\pm$ 31 dias), recebendo uma dieta com 25,7% de amido. O resultado foi de que os tratamentos não influenciaram a fermentação *in vitro* do milho e ambas as enzimas aumentaram a ingestão de MS dos animais (27; 29 e 28,5 Kg/d para os tratamentos controle, 7B e Amaize, respectivamente). Além de tudo, a enzima experimental 7B (em dose baixa) aumentou a produção de leite quando comparado com o controle (43,2 vs. 47,1 Kg/d para controle e 7B, respectivamente). No entanto, os tratamentos não influenciaram o ganho de peso dos animais, nem mesmo na composição do leite (gordura e proteína). No mesmo trabalho, porém em um ensaio de digestibilidade, observaram que a enzima experimental 7B, em dose baixa, aumentou a digestibilidade aparente total de MS, sem alterar a ingestão de MS.

Em um experimento com vacas leiteiras, Weiss et al. (2011) avaliaram a adição de amilase exógena em dietas com milho moído grosseiramente, em dois experimentos. Os autores avaliaram no primeiro experimento a adição de enzima em dietas contendo baixo teor de amido (25,85% e 31,1%,) para vacas no terço médio de lactação (104 $\pm$ 13 dias em lactação) sobre a digestibilidade de nutrientes. Nesse experimento a enzima aumentou a digestibilidade aparente total da FDN sem alterar a digestibilidade da MS.

Já no segundo experimento, avaliaram os mesmos tratamentos em animais em início para o terço médio de produção (74 $\pm$ 7 dias em lactação) sobre o desempenho

produtivo. Nele não foram observados efeitos da enzima sobre a produção e composição do leite, ingestão de MS, peso e escore de condição corporal.

De modo geral, os resultados com a adição de enzimas amilolíticas, sugerem que as enzimas não melhorem a digestibilidade aparente total da MS e a produção de leite, independente da fase de lactação, produção de leite, volumoso utilizado, teor de amido da dieta e outros fatores. Portanto, dentre 10 estudos realizados avaliando enzimas amilolíticas em dietas de vacas leiteiras, apenas o de Tricarico et al; (2005) resultou em efeitos positivos na produção de leite dos animais.

De fato, ao aplicar a suplementação de amilase exógena para vaca lactantes, tem-se o aumento da digestibilidade da FDN (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; WEISS et al., 2011).

Ainda, foi possível aumentar a produção de leite em vacas em lactação com a inclusão de α -amilase em TMR (TRICARICO et al. 2005; HARRISON e TRICARICO, 2007; KLINGERMAN et al., 2009).

Algumas pesquisas reportam sobre a melhoria na digestibilidade da dieta e desempenho produtivo em vacas leiteiras ao receberem enzima amilolítica exógena. Segundo Tricarico et al. (2005), obtiveram melhoras no desempenho produtivo ao suplementar vacas leiteiras com α -amilase proveniente de *Aspergillus oryzae*. Nessas pesquisas esclareceram que, para máxima produção de leite a dose foi de 240 unidade de dextrina (UD) Kg de MS da dieta, resultando em um aumento de 1,5 Kg/d em comparação com a não-suplementação (TRICARICO et al., 2008).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Todos os dias bilhões de pessoas consomem o leite de diversas formas, sendo uma das *commodities* agropecuárias mais importantes do mundo (IBGE, 2020). Com a intenção de atender a demanda do mercado, esse setor vem passando por intensas transformações, a fim de aumentar a produtividade de forma sustentável e competitiva, com intuito ainda de reduzir os custos de produção, principalmente com a nutrição animal, já que é responsável por 70% desses custos (GANDRA et al., 2017).

São adotadas algumas estratégias para o melhor aproveitamento e disponibilidade dos nutrientes para os animais, dentre essas estratégias estão os tratamentos físicos (picagem da fibra para melhorar o tamanho das partículas), moagem dos grãos, tratamento térmico, entre outros. No entanto, outra forma de otimizar esse fator é o uso de enzimas digestivas na alimentação.

O estudo dessas enzimas já tem sido verificado há décadas e tem a função de melhorar o uso dos nutrientes da dieta (ADESOGAN, 2005). Porém, os resultados ainda variam bastante nos rebanhos leiteiros, por haver influências que afetam a ação das enzimas como a fase lactacional do animal, composição da dieta, taxa de passagem e condições ruminais, delineamento e tempo do ensaio experimental, modo de ação da enzima empregada, disponibilidade de substratos, sinergismo entre enzimas e a própria regulação enzimática (ADESOGAN et al., 2014).

Como o milho vem dos últimos anos com um preço crescente, tem-se tornado interessante reduzir a inclusão de amido nas dietas de vacas leiteiras, porém essa redução pode resultar em menor energia disponível para vacas em lactação e assim comprometer a produção de leite e de proteína do leite. Diante disso, é muito importante que tenham pesquisas para estudar o melhoramento da digestibilidade do amido dietético na pecuária leiteira, já que uma boa parte da alimentação desses animais depende de grande quantidade desse nutriente, principalmente nos sistemas confinados de criação (NOZIÈRE et al., 2014).

Em sistemas intensivos de ruminantes, o mais comum é o uso de amido advindos dos grãos de cereais como fonte primária de energia (DILORENZO et al., 2011). Dessa forma, com alta frequência o teor de grãos na dieta vem aumentando, já que esses animais

necessitam de elevada energia nas dietas, e para atender essa demanda utiliza-se o amido como principal fonte de energia (ANDREAZZI et al., 2018).

No entanto, a degradação rápida e intensa do amido abundante pode gerar grande quantidade de ácidos no ambiente ruminal, motivo que ocasiona um quadro de acidose subclínica, afetando então a saúde do rúmen e por fim, a produção leiteira (OWENS et al., 1998). Além disso, ao persistir no quadro de acidose, pode haver redução na síntese da microbiota ruminal e também na secreção de sólidos do leite, bem como a gordura dele (OBA; ALLEN, 2003).

De uma forma, a maior degradação da fração amilácea na dieta com a inclusão de amilase exógena, pode resultar em maior síntese de proteína microbiana no rúmen, e como consequência, maior teor de proteína no leite. E a inclusão de α -amilase em TMR aumenta a produção de leite em vacas em lactação (TRICARICO et al, 2005; HARRISON e TRICARICO et al, 2007; KLINGERMAN et al. 2009). E, portanto, estudos confirmam que a adição de amilase exógena na dieta de vacas leiteiras melhora a digestibilidade da fibra (KLINGERMAN et al., 2009; GENCOGLU et al., 2010; WEISS et al., 2011).

De forma geral, independente da fase de lactação, produção de leite, volumoso utilizado, teor de amido da dieta e outros fatores de vacas leiteiras sugerem que as enzimas não melhorem a digestibilidade aparente total da MS e a produção de leite dos animais. Dentro 10 estudos avaliando enzimas amilolíticas para vacas leiteiras, somente o de Tricarico et al. (2005) demonstrou efeitos positivos na produção de leite dos animais.

Em estudo de Gado et al. (2009), empregaram diversas enzimas devido a melhoria no consumo, digestibilidade, fermentação ruminal e melhora na síntese de proteína microbiana, relacionando então um efeito positivo no desempenho produtivo. A adição de enzimas exógenas melhora a digestibilidade dos nutrientes, em especial a FDN e o amido, assim como mudanças na fermentação ruminal a partir de maior produção de propionato, permitindo maior aporte energético ao animal e melhora no desempenho produtivo.

Em experimento de Tricarico et al. (2005) observaram efeitos positivos na produção de leite ao adicionar enzima amilolítica e reforçaram a ideia de que a enzima

atua realmente como um modulador ruminal. Ainda encontraram efeito nos componentes do leite com as doses crescentes da enzima, em que houve aumento no teor de gordura e tendência ao aumento da proteína. Houve também produção de lactose e esse aumento está relacionado com o aumento da produção de leite. A glândula mamária é um tecido que exige glicose para a síntese de lactose e o propionato é principal precursor da gliconeogênese em ruminantes (ASCHENBACH et al., 2010).

O aumento da produção de leite pode ser pela seguinte sucessão de resultados: maior digestibilidade do amido, maior produção de propionato, maior produção de leite e de lactose no leite. Portanto, de forma geral, ao incluir enzimas exógenas na dieta há melhora da atividade enzimática no rúmen e, posteriormente, aumento da degradação ruminal de nutrientes (NOZIÈRE et al., 2014).

Ainda assim, os resultados sobre o uso de enzimas exógenas podem ser de difícil interpretação, devido aos diferentes cenários de aplicação como o estágio de lactação das vacas, o tipo de enzima, dosagens, associações, forma de aplicação, tipo e qualidade dos alimentos empregados na dieta (YANG et al., 2019).

Por fim, o produtor deve avaliar se o investimento das enzimas na dieta será adequado, visto que diversos fatores podem interferir nos resultados.

5. RESUMO

IMPORTÂNCIA DAS ENZIMAS AMIOLÍTICAS NA ALIMENTAÇÃO DE VACAS LEITEIRAS: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Uso de aditivos na dieta animal gera leite de melhor qualidade, além de promover economia com ração. A utilização de enzimas digestivas vem ganhando um espaço considerável no setor de pecuária leiteira, com intuito de promover maior desempenho e saúde animal. A amilase exógena é um bom exemplo disso, uma enzima capaz de melhorar a degradação do amido ingerido pelos animais. Um dos principais ganhos que a adição de amilase pode trazer é o ganho com conversão alimentar, já que com a melhora na digestibilidade os animais devem comer menos. No entanto, vários fatores interferem nos resultados, quando a enzima é adicionada na ração das vacas leiteiras. Neste contexto, para que o investimento seja adequado, o produtor de leite deve ficar atento às condições para o uso das enzimas, uma vez que nem sempre os resultados são condizentes e economicamente viáveis.

Palavras-chave: Aditivo; Amido; Amilase; Bovino; Energia; Produção de leite.

6. SUMMARY

IMPORTANCE OF AMYLOLYTIC ENZYMES IN THE FEEDING OF DAIRY COWS: BIBLIOGRAPHIC REVIEW

The use of additives in the animal diet generates better quality milk, in addition to promoting feed savings. The use of digestive enzymes has been gaining considerable space in the dairy sector, with the aim of promoting greater performance and animal health. Exogenous amylase is a good example of this, an enzyme capable of improving the breakdown of starch ingested by animals. One of the main gains that the addition of amylase can bring is the gain with feed conversion, since with the improvement in digestibility the animals should eat less. However, several factors interfere with the results when the enzyme is added to the feed of dairy cows. In this context, for the investment to be adequate, the dairy producer must pay attention to the conditions for the use of enzymes, since the results are not always consistent and economically viable.

Key words: Additive; Amylase; Bovine; Energy; Milk production. Starch.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEHLE, W. **Enzymes in Industry: production and applications**. 2nd ed. Germany. Wiley-CH Verlag GmbH & Co. LGA, Weinheim, 2004.

ANDREAZZI, A. S. R. et al., (2018). Effect of exogenous amylase on lactation performance of dairy cows fed a high-starch diet. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 8, p. 7199-7207, 1 ago. 2018.

ARRIOLA, Kathy G. et al., (2017). A meta-analysis on the effect of dietary application of exogenous fibrolytic enzymes on the performance of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4513-4527, 2017.

ASCHENBACH, J. R., N. B. KRISTENSEN, S. S. DONKIN, H. M. HAMMON; G. B. PENNER. Gluconeogenesis in dairy cows: The secret of making sweet milk from sour dough. **IUBMB Life** 62 p. 869-877, 2010.

BALDWIN, P. M. Starch granule-associated proteins and polypeptides: a review. **Starch/Starke**, v. 53, p. 475-503, 2001.

BARLETTA, A. Introduction: current Market and expected developments. In: BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. (Ed.). **Enzymes in farm animal nutrition**. 2. ed. London, UK: CAB International, 2011. p. 1-11.

BATAJOO, K. K., SHAVER, R. D. Impact of nonfiber carbohydrate on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 77, p. 1580-1587, 1994.

BEAUCHEMIN, K. A. et al., (1994). Effects of mastication on digestion of whole cereal grains by cattle. **Journal of Animal Science**, v. 72, n. 1, p. 236-246, 1994.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; SEWALT, V. J. H. Fibrolytic enzymes increase fiber digestibility and growth rate of steers fed dry forages. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, n. 4, p. 641-644, 1995.

BEAUCHEMIN, K. A.; YANG, W. Z.; RODE, L. M. Effects of grain source and enzyme additive on site and extent of nutrient digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 75, p. 378-390, 1999.

BEAUCHEMIN, K. A.; RODE, L. M.; MAEKAWA, M.; MORGAVI, D.; KAMPEN, R. Evaluation of a non-starch polysaccharidase feed enzyme in dairy cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 543-553, 2000.

BEAUCHEMIN, K. A. et al., (2003). Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 81, n. 14_suppl_2, p. E37-E47, 2003.

BECKMAN, J. L.; WEISS, W. P. Nutrient digestibility of diets with different fiber to starch ratios when fed to lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v. 88, p. 1015-1023, 2005.

BLAZEK, J. **Role of amylose in structure-function relationship in starches from Australian wheat varieties**. 2008. 255 p. Tese (Doutorado) – Universidade de Sidney, Sidney, Austrália. 2008.

BORGES, Ana L. C. C. Aditivos: o que há de novo? **Revista leite integral**, 2012. Disponível em: [file:///C:/Users/Usuario/Desktop/TCC/Artigos/2/Revista%20Leite%20Integral%20%20Aditivos%20Borges%20et%20al.%20\(2012\)%20ok.html](file:///C:/Users/Usuario/Desktop/TCC/Artigos/2/Revista%20Leite%20Integral%20%20Aditivos%20Borges%20et%20al.%20(2012)%20ok.html). Acesso em: 28 dez. 2022.

BOVINOS: AMILASE NA ALIMENTAÇÃO MELHORA O DESEMPENHO DO GADO. **Portalr2s**, 2017. Disponível em: file:///C:/Users/Usuario/Desktop/TCC/Artigos/lidos/Bovinos_%20amilase%20na%20alimenta%C3%A7

[%C3%A3o%20melhora%20o%20desempenho%20do%20gado%20%20Portal%20R2S%20ENZIMA%20AMILOL%C3%8DTICA%20ok.html](#). Acesso em: 28 dez. 2022.

BOWMAN, G. R.; BEAUCHEMIN, K. A.; SHELFORD, J. A. The proportion of the diet to which fibrolytic enzymes are added affects nutrient digestion by lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85, n. 12, p. 3420-3429, 2002.

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Instrução Normativa nº 13, de 30 de novembro de 2004.

BUGONI, Milena. Estratégias nutricionais para aumentar o desempenho produtivo em vacas leiteiras: I. Enzimas exógenas como aditivos alimentares. II. Extrato de malte substituindo parcialmente o milho na dieta. 2022. **Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.**

CABRITA, A. R. J. et al. Effects of dietary protein and starch on intake, milk production, and milk fatty acid profiles of dairy cows fed corn silage-based diets. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 3, p. 1429-1439, 2007.

CHEN, M. K.; HUBER, J. T.; SIMAS, J.; THEURER, C. B.; YU, P.; CHAN, S. C.; F. SANTOS, WU, Z.; SWINGLE, R. S. Effect of enzyme treatment or steam-flaking of sorghum grain on lactation and digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 78, p. 1721-1727, 1995.

CHESSON, A.; FORSBERG, C. W. Polysaccharide degradation by rumen microorganisms. In: The rumen microbial ecosystem. Springer, Dordrecht, 1997. p. 329-381.

CORNELL, H. J.; HOVELING, A. W.; CHRYSS, A.; ROGERS, M. Particle size distribution in wheat starch and its importance in processing. **Starch/Starke**, v. 46, p. 203-207, 1994.

CORONA, L.; OWENS, F. N.; ZINN, R. A. Impact of corn vitreousness and processing on site and extent of digestion by feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 84, n. 11, p. 3020-3031, 2006.

CORREA, C. E. S. et al. Relationship between corn vitreousness and ruminal in situ starch degradability. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 11, p. 3008-3012, 2002.

COTTA, M. Amylolytic of selected species of ruminal bacteria. **Applied Environmental Microbiology**, v. 54, p. 772-776, 1988.

DE ANDREAZZI, Arturo Sia Ratzsch. Suplementação de amilase para vacas leiteiras em lactação. 2014.

DEFRAIN, J. M. et al. Effects of dietary α -amylase on metabolism and performance of transition dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 88, n. 12, p. 4405-4413, 2005.

DE MEDEIROS, Sérgio Raposo; MARINO, C. T. Carboidratos na nutrição de gado de corte. 2015.

DEVRIES, T. J.; GILL, R. M. Adding liquid feed to a total mixed ration reduces feed sorting behavior and improves productivity of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 5, p. 2648-2655, 2012.

DILORENZO, N. et al., (2011). Effects of grain processing and supplementation with exogenous amylase on nutrient digestibility in feedlot diets. **Livestock Science**, v. 137, n. 1-3, p. 178-184, 2011.

ELLIS, J. L. et al., (2011). The effect of high-sugar grass on predicted nitrogen excretion and milk yield simulated using a dynamic model. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 6, p. 3105-3118, 2011.

EMBRAPA, Utilização de Ionóforos para Bovinos de Corte. Documento 101, jul., 2006.

FERRARETTO, Luiz F. et al., (2011). Influence of a reduced-starch diet with or without exogenous amylase on lactation performance by dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 94, n. 3, p. 1490-1499, 2011.

FERRARETTO, L. F.; CRUMP, P. M.; SHAVER, R. D. Effect of cereal grain type and corn grain harvesting and processing methods on intake, digestion, and milk production by dairy cows through a meta-analysis. **Journal of Dairy Science**, v. 96, p. 533-550, 2013.

FIRKINS, J. L. et al., (2001). Effects of grain variability and processing on starch utilization by lactating dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. suppl_E, p. E218-E238, 2001.

FOLEY, Anna E. et al., (2006). Effect of barley and its amylopectin content on ruminal fermentation and nitrogen utilization in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 11, p. 4321-4335, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). **Livestock's long shadow: environmental issues and options**. Rome: FAO, 2006. Disponível em: http://www.virtualcentre.org/enlibrary/key_pub/longshad/A0701E00.pdf. Acesso em: 16 dez. 2022.

FREIRE, Leile Daiane Ribeiro. **Amilase exógena e óleos essenciais como alternativa à monensina em dietas de vacas em lactação**. 2018. Tese (Doutorado) – Curso de Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2018.

GADO, H. M.; SALEM, A. Z. M.; ROBINSON, P. H.; HASSAN, M. Influence of exogenous enzymes on nutrient digestibility, extent of ruminal fermentation as well as milk production and composition in dairy cows. **Animal Feed Science Technology**, v. 154, p. 36-46, 2009.

GANDRA, J. R.; MIRANDA, G. A.; GOESA, R. H. T.; TAKIYA, C. S.; DEL VALLE, T. A.; OLIVEIRA, E. R.; FREITAS JUNIOR, J. E.; GANDRA, E. R. S.; ARAKIA, H. M. C.; SANTOS, A. L. A. V. Fibolytic enzyme supplementation through ruminal bolus on eating behavior, nutrient digestibility and ruminal fermentation in Jersey heifers fed either corn silage or sugarcane silage-based diets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 231, p. 29-37, 2017.

GENCOGLU, H. et al., (2010). Effect of feeding a reduced-starch diet with or without amylase addition on lactation performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 2, p. 723-732, 2010.

GIUBERTI, Gianluca et al., (2014). Factors affecting starch utilization in large animal food production system: A review. **Starch-Stärke**, v. 66, n. 1-2, p. 72-90, 2014.

GOLDER, H. M. et al., (2012). Effects of grain, fructose, and histidine on ruminal pH and fermentation products during an induced subacute acidosis protocol. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 4, p. 1971-1982, 2012.

GRAY, G. M. Starch digestion and absorption in nonruminants. **Journal Nutrition**, p. 122-172, 1992.

GRESSLEY, T.; HALL, M. B.; ARMENTANO, L. E. Productivity, digestion, and health responses to hindgut acidosis in ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 89, p. 1120-1130.

GURUNG, Neelam et al. A broader view: microbial enzymes and their relevance in industries, medicine, and beyond. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.

HALE, W. H. Influence of processing on the utilization of grains (starch) by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 37, p. 1075, 1973.

HARMON, D. L. Nutritional regulation of postruminal digestive enzymes in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v. 76, p. 2102, 1993.

- HARMON, D. L.; MCLEOD, K. R. Glucose uptake and regulation by intestinal starch digestion in ruminants: a review. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 84, p. 309-318, 2004.
- HARRISON, G. A.; TRICARICO, J. M. Case Study. Effects of na *Aspergillus oryzae* containing alpha amylase on lactational performance in comercial dairy herds. **The Prof. Animal Scientist**. v. 23, p. 291-294, 2007.
- HOSENEY, R. C.; DAVIS, A. B.; HARBERS, L. H. Pericarp and endosperm structure of sorghum grain shown by scanning electron microscopy. *Cereal Chemistry*. V. 51, p. 553-558, 1974.
- HRISTOV, A. N.; MCALLISTER, T. A.; CHENG, K. J. Stability of exogenous polysaccharide-degrading enzyme in the rumen. **Animal Feed Science and Technology**, v. 76, p. 161-168, 1998.
- HRISTOV, A. N.; BASEL, C. E.; MELGAR, A.; FOLEY, A. E.; ROPP, J. K.; HUNT, C. W.; TRICARICO, J. M. Effects os exogenous polysaccharide-degrading enzyme preparations on ruminal fermentation and digestibility of nutrients in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, p. 182-193, 2008.
- HUNTINGTON, G. B. Starch utilization by ruminants: From basics to the bunk. **Journal of Animal Science**, v. 75, p. 852-867, 1997.
- IMMANUEL, G.; DHANUSA, R.; PREMA, P.; PALAVESAM, A. Effect of different growth parameters on endoglucanase enzyme activity by bactéria isolated from coir retting effluents os estuarine environment. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 3, p. 25-34, 2006.
- JOBIM, C. C., BRANCO A. B., SANTOS G. T. Silagem de grãos úmidos na alimentação de bovinos. **In: V Simpósio Goiano sobre Manejo e Nutrição de Bovinos de Corte e Leite**, Goiânia. p. 357-376, 2003.
- JOHNSON, L.; HARRISON, J. H.; HUNT, C.; SHINNERS, K.; DOGGET, C. G.; SAPIENZA D. Nutritive value of corn silage as affected by maturity and mechanical processing: A contemporary review. **Journal Dairy Science**, v. 82, p. 2813-2825, 1999.
- KINGSTON-SMITH, A. H.; MARSHALL, A. H.; MOORBY, J. M. Breeding for genetic improvement of forage plants in relation to increasing animal production with reduced environmental footprint. **Animal**, v. 7, p. 79-88, 2013.
- KLINGERMAN, Candice M. et al., (2009). An evaluation of exogenous enzymes with amylolytic activity for dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 3, p. 1050-1059, 2009.
- KOSLOZKY, G. **Bioquímica de ruminantes**. 2. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 2009. p. 216.
- LEHNINGER, A. L. **Principles of biochemistry**. New York, NY: Worth Publishers, Inc., 2005. p. 1982 – 1104.
- LEMOSQUET, Sophie et al., (2009). Whole-body glucose metabolism and mammary energetic nutrient metabolism in lactating dairy cows receiving digestive infusions of casein and propionic acid. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 12, p. 6068-6082, 2009.
- LEWIS, G. E.; HUNT, C. W.; SANCHEZ, W. K.; TREACHER, R.; PRITCHARD, G. T.; FENG, P. Effect of direct-fed fibrolytic enzymes on the digestive characteristics of a forage-based diet fed to beef steers. **Journal of Animal Science**, v. 74, p. 3020-3028, 1996.
- MCALLISTER, T. A. et al., (1993). Effect of the protein matrix on the digestion of cereal grains by ruminal microorganisms. **Journal of animal science**, v. 71, n. 1, p. 205-212, 1993.
- MCALLISTER, T. A. et al., (2001). Enzymes in ruminant diets. **Enzymes in farm animal nutrition**, p. 273-298, 2001.

- MCCARTHY, M. M. et al., (2013). The effect of an exogenous amylase on performance and total-tract digestibility in lactating dairy cows fed a high-byproduct diet. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 5, p. 3075-3084, 2013.
- MCDUGALL, E. I. 1948. Studies os ruminant saliva. **Biochemical Journal**. 43:99-109.
- MILLS, J. A. N.; FRANCE, J.; DIJKSTRA, J. A review of starch digestion in the lactating dairy cow and proposals for a mechanistic model: 1. Dietary starch characterisation and ruminal starch digestion. **J. Animal Feed Science**, v. 8, n. 3, p. 291-340, 1999.
- MILLS, Jonathan AN et al., (2017). A mechanistic model of small intestinal starch digestion and glucose uptake in the cow. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 4650-4670, 2017.
- MINOR, D. J.; TROWER, S. L.; STRANG, B. D. et al. Effects of nonfiber carbohydrate and niacina on periparturient metabolic status and lactation of dairy cows. **Journal Dairy Science**, v. 81, p. 189-200, 1998.
- MORAES, L.M.P. Amilases. In: SAID, S., PIETRO, R. **Enzimas como agentes Biotecnológicos**. Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004.
- MORGAVI, D. P. et al., (2000). Synergy between ruminal fibrolytic enzymes and enzymes from *Trichoderma longibrachiatum*. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 6, p. 1310-1321, 2000.
- MORGAVI, D. P. et al., (2001). Resistance of feed enzymes to proteolytic inactivation by rumen microorganisms and gastrointestinal proteases. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 6, p. 1621-1630, 2001.
- MUNHOZ, Mariane D. Enzimas: da obtenção à aplicação. **Laboratório de bioquímica de alimentos**, 2020. Disponível em [file:///C:/Users/Usuario/Desktop/TCC/Artigos/lidos/Enzimas %20da%20obten%C3%A7%C3%A3o%20%C3%A0%20aplica%C3%A7%C3%A3o!%20INICIO%20AMILASE%20Castro%20\(2020\)%20ok.html](file:///C:/Users/Usuario/Desktop/TCC/Artigos/lidos/Enzimas%20da%20obten%C3%A7%C3%A3o%20%C3%A0%20aplica%C3%A7%C3%A3o!%20INICIO%20AMILASE%20Castro%20(2020)%20ok.html). Acesso em: 28 dez. 2022.
- MURAD, H. A.; AZZAZ, H. H. Cellulase and dairy animal feeding. **Biotechnology**, v. 9, p. 238-256, 2010.
- NAFIKOV, R. A., AND D. C. BEITZ. 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. **Journal of Nutrition**. v. 137, p. 702-705, 2007.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. ver. ed. Washington, D.C.: National Academic Press, 2001.
- NOCEK, J. E.; RUSSELL, J. B. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. **Journal Dairy Science**, v. 71, p. 2070-2017, 1988.
- NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. Site of digestión of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk yield na composition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 3598, 1991.
- NOZIÈRE, Pierre et al., (2014). Amylase addition increases starch ruminal digestion in first-lactation cows fed high and low starch diets. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 4, p. 2319-2328, 2014.
- NOZIERE, Pierre et al., (2010). Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fibre to nutrients available for tissues. **Animal**, v. 4, n. 7, p. 1057-1074, 2010.
- OBA, M.; ALLEN, M. S. Effects of corn grain conservation method on feeding behavior and productivity of lactating dairy cows at two dietary starch concentrations. **Journal of Dairy Science**, v. 86, p. 174-183, 2003.

ORTIZ RODEA, ARTURO et al., (2013). The use of exogenous enzymes in dairy cattle on milk production and their chemical composition: a meta-analysis. 2013.

OWENS, F. N.; ZINN, R. A.; KIM, Y. K. Limits to starch digestion in the ruminant small intestine. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1634-1648, 1986.

OWENS, F. N.; SECRIST, D. S.; HILL, W. J. GILL, D. R. Acidosis in cattle: a review. **Journal of Animal Science**, v. 76, p. 275-286, 1998.

POORE, M. H. et al., (1993). Effect of fiber source and ruminal starch degradability on site and extent of digestion in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 76, n. 8, p. 2244-2253, 1993.

PHIPPS, R. H.; SUTTON, J. D.; BEEVER, D. E.; BHAT, M. K.; HARTNELL, G. F.; VICINI, J. L.; HARD, D. L. Evaluation of feed additives in the diet of lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 23, 2000^a. Supplement, 1.

PHIPPS, R. H.; SUTTON, J. D.; BEEVER, D. E.; BHAT, M. K.; HARTNELL, G. F.; VICINI, J. L.; HARD, D. L. Effects of cell-wall degrading enzymes and method of application on feed intake and milk production of Holstein-Friesian dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 23, 2000^b. Supplement, 1.

PRAKASH, B. et al., (2009). Production, purification, and characterization of two extremely halotolerant, thermostable, and alkali-stable α -amylases from *Chromohalobacter* sp. TVSP 101. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 2, p. 210-215, 2009.

REDDY, P. Ravi Kanth et al., (2016). Recent trends in supplementation of exogenous fibrolytic enzymes in ruminant nutrition: a review. **Indian Journal of Natural Sciences**, v. 7, p. 11700-11708, 2016.

REYNOLDS, C. K, HUMPHRIES, D. J.; VAN VUUREN, A. M.; DIJKSTRA, J.; BANNINK, A. Considerations for feeding starch to high yielding dairy cows. In: P. C. GARNSWORTHY, J. WISEMAN (Ed.). **Recent Advances in Animal Nutrition**. Packington: UK, 2014. p. 27-47.

RODE, L. M.; YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K. A. Fibrolytic enzymes supplements for dairy cows in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2121-2126, 1999.

ROJO-RUBIO, R.; MENDOZA-MARTINEZ, G. D.; CROSBY-GALVAN, M. M. Use of thermostable amylase from *Bacillus licheniformis* on *in vitro* starch digestion of sorghum and corn. **Agrociencia**, v. 35, p. 423-427, 2001.

ROJO, R. et al., (2005). Effects of exogenous amylases from *Bacillus licheniformis* and *Aspergillus niger* on ruminal starch digestion and lamb performance. **Animal Feed Science and Technology**, v. 123, p. 655-665, 2005.

ROONEY, L. W.; PFLUGFELDER, R. L. R. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1607-1623, 1986.

RUST, S. **Associative effects in the ruminant animal**. Ph.D. Thesis Dissertation Stillwater: Oklahoma State Library, 1992.

SAMPAIO, Cláudia Batista. **Aditivos alimentares alternativos para bovinos**. 2021. Boletim Técnico de Extensão – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2021.

SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V. Microbial phytase in poultry nutrition. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, p. 1-41, 2007.

SHAVER, R. Improving Starch Digestibility in Dairy Cows: Opportunities with Reduced-Starch Diets. Four-State Dairy Nutr. & Mgmt Conf. Dubuque, p. 90-93, 2010.

SIEVERT, S. J.; SHAVER, R. D. Carbohydrate and *Aspergillus oryzae* effects on intake, digestion, and milk production by dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 76, n. 1, p. 245-254, 1993.

SOUTH, J. B.; MORRISON, W. R.; NELSON, O. E. A relationship between the amylose and lipid contents of starches from various mutants for amylose content in maize. **Journal of Cereal Science**, v. 14, n. 3, p. 267-278, 1991.

STAPLES, C. R. Feeding dairy cows when corn prices are high. Florida Dairy Production Conference, Gainesville, FL. v. 44, p. 7-22, 2007.

SUBRAMANIAM, R.; VIMALA, R. Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: A comparative study. **International Journal of Science and Nature**, v. 3, p. 480-486, 2012.

SUJANI, S.; SERESINHE, R. T. Exogenous enzymes in ruminant nutrition: A review. **Asian Journal os Animal Sciences**, v. 9, p. 85-99, 2015.

SUTTON, John D. et al., (1987). A comparison of starchy and fibrous concentrates for milk production, energy utilization and hay intake by Friesian cows. **The Journal of Agricultural Science**, v. 109, n. 2, p. 375-386, 1987.

SWENSON, M. J.; REECE, W. O. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1986. 856 p.

TAKIYA, Caio Seiti. **Enzima amilolítica exógena na alimentação de vacas em lactação**. 2016. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo, 2016.

TAKIYA; SILVA, T. H. D; DEL VALLE, T. A; SILVA, G. G; ZILIO, E. M. D. C; ZANFERARI, F; GHIZZI, L. G; RENNÓ, F. P. Enzimas exógenas na alimentação de vacas leiteiras. Novos desafios da pesquisa em nutrição e produção animal, 2016.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. QI, X. Starch composition, fine structure and architecture: Review. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

THEURER, C. B. Grain processing effects on starch utilization by ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 63, p. 1649-1662, 1986.

THEURER, C. B. et al., (1999). Steam-processed corn and sorghum grain flaked at different densities alter ruminal, small intestinal, and total tract digestibility of starch by steers. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 10, p. 2824-2831, 1999.

TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A.; HANSON, K. C.; MCLEOD, K. R.; HARMON, D. L. The effects of na *Aspergillus oryzae* extract containing alpha amylase activity on ruminal fermentation and mil production in lacting Holstein cows. **Animal Science**, v. 81, p. 365-374, 2005.

TRICARICO, J. M.; JOHNSTON, J. D.; DAWSON, K. A. Dietary supplementation of ruminant diets with an *Aspergillus oryzae* α -amylase. **Animal Feed Science and Technology**, v. 145, n. 1-4, p. 136-150, 2008.

UNITED NATIONS. Department of Economic and Social Affairs, Population Division. **World population prospects: the 2012 revision, key findings and advance tables**. 2013. (Working Paper no. ESA/P/WP.227). Disponível em: <https://population.un.org/wpp/>. Acesso em: 18 dez. 2022.

VAN SOEST, P. J. **Nutritional ecology of the ruminant**. Ithaca: Cornell University Press, 1994.

VASANTHAN, T.; BAHATTY, R. S. Physicochemical properties of small- and large-granule starches of waxy, regular and high amylose barleys. **Cereal Chemistry**, v. 73, 199-207, 1996.

VICINI, J. L. et al., (2003). Effect of feeding supplemental fibrolytic enzymes or soluble sugars with malic acid on milk production. **Journal of Dairy Science**, v. 86, n. 2, p. 576-585, 2003.

WANG, T. L.; BOGRACHEVA, T. Y.; HENDLEY, C. L. Starch: as simple as A, B, C? **Journal of Experimental Botany**, v. 49, p. 481, 1998.

WATTIAUX, M. A.; ARMENTANO, L. E. O metabolismo de carboidratos em bovinos de leite. Instituto Babcock para Pesquisa e Desenvolvimento da Pecuária Leiteira Internacional, University of Wisconsin-Madison, 2015.

WEISS, W. P.; SHOCKEY, W. L. Value of orchardgrass and alfalfa silages fed with varying amounts of concentrates to dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, p. 1933-1943, 1991.

WEISS, W. P.; STEINBERG, W.; ENGSTROM, M. A. Milk production and nutrient digestibility by dairy cows when fed exogenous amylase with coarsely dry corn. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p. 2492-2499, 2011.

WHEELER, W. E.; NOLLER, C. H. Gastrointestinal tract pH and starch in faces of ruminants. **Journal of Animal Science**, v. 44, p. 131-135, 1977.

WIRYAWAN, K. G.; BROOKER, John Douglas. Probiotic control of lactate accumulation in acutely grain-fed sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 46, n. 8, p. 1555-1568, 1995.

YANG, W. Z.; BEAUCHEMIN, K.; RODE, L. M. A comparison of methods of adding fibrolytic enzymes to lactating cow diets. **Journal of Dairy Science**, v. 83, p. 2512-2520, 2000.

ZILIO, Elissandra Maiara de Castro. Enzimas fibrolítica e amilolítica exógenas na alimentação de vacas em lactação. 2018. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.